

allergic diseases, paraproteinaemia, lymphatic leukemia and lymphosarcoma.

### Discussion

$\beta_{1A}$ globulin is detectable in all sera from foetus more than 15 weeks old (8). The in vitro synthesis of  $\beta_{1A}$ globulin was observed using liver obtained from foetus more than 15 weeks of age (9). However the present quantitative results indicate that at birth the serum levels of this protein are still low and increase very rapidly during the first days of life.

Estrogens seem to influence the  $\beta_{1A}$  levels as its values in menstruating women are clearly lower than that of postmenopausal women, adult men and children.

According to the semiquantitative data of WEST and Coworkers (1) and GOTOFF and Coworkers (2), low

levels were observed in acute nephritis and normal values in chronic nephritis and lipoid nephrosis.

Since this protein is synthesized outside the liver by mesenchymal tissues, the low values observed in 50% of cases of liver cirrhosis, especially in severe cases, are unlikely to be ascribed to the reduction of liver function. At present it is difficult to assess whether the low levels of serum  $\beta_{1A}$ globulin in liver cirrhosis, as in acute nephritis (10), are a consequence of in vivo breakdown and/or deposition on immune complexes and/or failure of formation.

The possibility of an increase of serum  $\beta_{1A}$ globulin could also be mentioned: as previously reported by SANDOR and Coworkers (6), this was found in cases of severe infection diseases or in tumor cases.

### References

1. WEST, C. D., J. D. NORTHWAY and N. V. DAVIS, J. Clin. Invest. 43, 1507 (1964). — 2. GOTOFF, S. P., F. X. FELLERS, G. F. WAWTER, C. A. JANEWAY and F. S. ROSEN, N. England J. Med. 273, 524 (1965). — 3. KLEMPERER, M. R., S. P. GOTOFF, C. A. ALPER, A. S. LEVIN and F. S. ROSEN, Pediatrics Springfield 35, 765 (1965). — 4. ALPER, C. A., A. S. LEVIN and F. S. ROSEN, Science Washington 153, 180 (1966). — 5. SOOTHILL, J. F., Clin. exp. Immunol. 2, 83 (1967). — 6. SANDOR, G., B. SUREAN, L. MARTIN, C. ORLEY, G. BERIOD and R. MARTIN, Bull. Acad. méd. Paris 151, 210 (1967). — 7. VERGANI, C., R. STABILINI and A. AGOSTONI, Immunochemistry 4, 233 (1967). — 8. ADINOLFI, M. and B. GARDNER, Acta paediatr. Stockholm 56, 450 (1967). — 9. ADINOLFI, M. and B. GARDNER, Unpublished data. — 10. WEST, C. D., S. WINTER, J. FORRISTAL, J. M. MCCONVILLE and N. C. DAVIS, J. Clin. Invest. 46, 539 (1967).

Dr. A. Agostoni  
Via Francesco Sforza 35  
I 20122 Milano

## Gaschromatographische Untersuchungen von Phenolsäuren im Urin

Von W. RUGE

*Aus der Abteilung Stoffwechsel der Medizinischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover  
(Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. F. Hartmann)*

(Eingegangen am 28. Mai 1968)

Es wird über eine gaschromatographische Methode zur Trennung und quantitativen Bestimmung von Phenolsäuren berichtet. Hierzu werden die Phenolsäuren zuvor in die Methyl ester-Methyläther bzw. Trimethylsilyl ester-Trimethylsilyl äther umgewandelt. Die Methode ist zur Messung der Phenolsäuren im Urin geeignet.

Es werden zunächst die Ausscheidungen von *m*- und *p*-Hydroxyphenyllessigsäure bei Normalpersonen und bei Patienten mit Leberinsuffizienz bestimmt.

Ursachen der erhöhten Ausscheidung von *p*-Hydroxyphenyllessigsäure bei Leberinsuffizienz werden diskutiert.

### *The study of urinary phenolic acids by gas chromatography.*

A gas chromatographic method is reported for the separation and quantitative determination of phenolic acids as their methyl ester-ethers, or their trimethylsilyl ester-ethers. The method is suitable for the determination of phenolic acids in urine.

The method was used to measure the excretion of *m*- and *p*-hydroxyphenylacetic acid in normal persons and in patients with liver insufficiency.

Reasons are discussed for the increased excretion of *p*-hydroxyphenylacetic acid in liver insufficiency.

Im Urin wird eine Vielzahl von Phenolsäuren ausgeschieden. Nach den papierchromatographischen Untersuchungen von ARMSTRONG (1), ROBINSON (2), SMITH (3) sowie HARTMANN und Mitarbeitern (4–6) sind etwa 40 Phenolsäuren, zum Teil in sehr geringer Konzentration zu finden.

Eine gleichzeitige quantitative Bestimmung ist mit papierchromatographischen sowie dünnenschichtchroma-

tographischen Methoden nicht möglich, da sich auch bei 2-dimensionalem Lauf mehrere Substanzflecke überlagern.

Wir haben deshalb eine gaschromatographische Methode entwickelt, die es erlaubt, die wichtigsten Phenolsäuren voneinander getrennt zu erfassen und ihre Ausscheidung quantitativ zu messen. Methodische Hinweise erhielten wir aus den Arbeiten von WILLIAMS und SWEETLEY (7, 8),

DALGLIESH und HORNING (9), HORNING, KNOX, DALGLIESH und HORNING (10) sowie HORNING, BOUCHER und MOSS (11).

Die Phenolsäuren müssen zuvor in leicht verdampfbare Derivate umgewandelt werden. Wir stellten deshalb die Methylester-Methyläther mit Diazomethan und die Trimethylsilylester-Trimethylsilyläther mit Bis-(trimethylsilyl)-acetamid her. Da aus papierchromatographischen Untersuchungen bekannt war, daß die *p*-Hydroxyphenylessigsäure, ein Metabolit der aromatischen Aminosäure Tyrosin, bei Leberinsuffizienz im Urin erhöht ist, und die *m*-Hydroxyphenylessigsäure, ein Catecholaminmetabolit, bei Leberinsuffizienz fehlt (4–6), untersuchten wir zunächst die Ausscheidung dieser Substanzen im Urin bei Gesunden und bei Patienten mit den Zeichen einer Leberinsuffizienz.

## Methodik

24-Stdn.-Urine von Normalpersonen und Patienten mit Lebercirrhose und den Zeichen der Leberinsuffizienz (Klinische Hinweise für Enzephalopathie, Ammoniakserhöhung) wurden gesammelt, mit Eisessig angesäuert und im Kühlraum aufbewahrt. Ausgehend von einer Urinmenge, die 20 mg Kreatinin enthielt (Bestimmung nach Jaffé) wurde die gleiche Menge gesättigter NaCl-Lösung zugegeben und das pH mit 6N HCl auf 1,0 eingestellt. Danach wurde 3 mal mit der gleichen Menge Essigsäure-äthylester p. a. und 3 mal mit der gleichen Menge Diäthyläther p. a. extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Das Filtrat wurde im Büchi-Evaporator eingengt und in 1,0 ml Methanol aufgenommen. Zur Methylierung wurden etwa 20 ml ätherische Lösung von Diazomethan zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur zur Bildung der Methylester und Methyläther stehengelassen.

Nach Entfernen des überschüssigen Diazomethans nahmen wir den Rückstand in 0,5 ml 95proz. Äthanol auf.

Die gaschromatographischen Analysen wurden an einem 2-Kolonnenapparat F und M 810 mit Flammenionisationsdetektor durchgeführt. Säulenlänge 5,40 m, Durchmesser  $\frac{1}{8}$  Zoll. Säulenfüllung: 5% Silicon Gum Rubber (Phenylmethyl) GE-SE 52 auf Diatoport S 80–100 mesh. Als Trägergas wurde gereinigter Stickstoff verwendet. Die Durchflußgeschwindigkeit betrug 25 ml/Min. Temperatur des Einspritzblocks 270°, des Detektors 320°. Die Ofentemperatur wurde programmiert, zumeist 6°/Min. von 100° bis 250°.

Mit einer 10  $\mu$ l Hamiltonspritze wurden jeweils 1,0 oder 2,0  $\mu$ l auf die Säule gegeben.

Zur quantitativen Messung der *p*- und *m*-Hydroxyphenylessigsäuren wurde die Fläche der entsprechenden Peaks gemessen und zu Standardzusätzen in Beziehung gesetzt.

Tab. 1

Relative Retentionszeiten von aromatischen Säuren (Methylester) bzw. Phenolsäuren (Methylester-Methyläther), bezogen auf Hippursäure-methylester (1,00) = 22,9 Min. Bedingungen s. Abb. 1

1 = <i>m</i> -Hydroxybenzoesäure	0,61
2 = <i>p</i> -Hydroxybenzoesäure	0,63
3 = <i>m</i> -Hydroxyphenylmilchsäure	0,63
4 = <i>o</i> -Hydroxyphenylessigsäure	0,64
5 = <i>m</i> -Hydroxyphenylessigsäure	0,66
6 = <i>p</i> -Hydroxyphenylessigsäure	0,69
7 = <i>p</i> -Hydroxyphenylpropionsäure	0,81
8 = $\alpha$ -Resorcyssäure	0,86
9 = Vanillinsäure	0,87
10 = Protocatechusäure	0,87
11 = Homovanillinsäure	0,90
12 = 3,4-Dihydroxyphenylmilchsäure	0,91
13 = Hippursäure	1,00
14 = Vanillinmandelsäure	1,03
15 = <i>p</i> -Hydroxyphenylbrenztraubensäure	1,06
16 = Indolelessigsäure	1,11
17 = 5-Hydroxyindolelessigsäure	1,35

Von jeder Urinprobe wurde ein Parallelansatz mit Zusatz der zu messenden Substanz analysiert.

Die Trimethylsilylester-Trimethylsilyläther wurden folgendermaßen hergestellt: 1,0 mg Testsubstanz bzw. der wie oben gewonnene Urinextrakt wurden in 0,2 oder 0,4 ml Bis-(trimethylsilyl)-acetamid (BSA, Aldrich Chem. Co.) gelöst und über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Hiervon wurden dann aliquote Mengen auf die Säule gegeben.

## Ergebnisse

Folgende Phenolsäuren und aromatische Säuren konnten voneinander getrennt werden: (Abb. 1) *m*-Hydroxybenzoesäure, *o*-Hydroxyphenylessigsäure, *m*-Hydroxy-

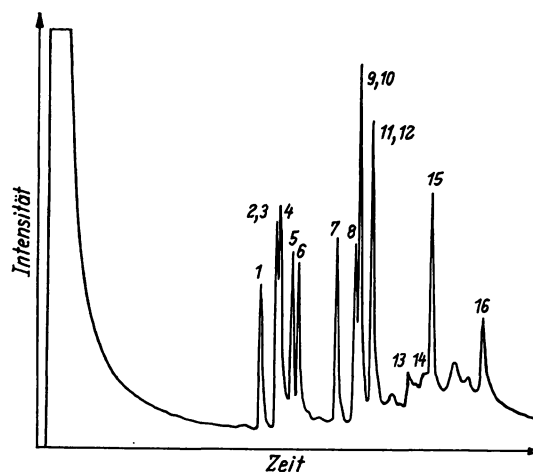


Abb. 1

Gaschromatogramm von 8  $\mu$ l Gemisch aromatischer Säuren (Methylester), Phenolsäuren (Methylester-Methyläther), 1  $\mu$ g jeder Substanz

2-Kolonnengaschromatograph F und M 810, Flammen-Ionisations-Detektor  
Säulenlänge 18 feet, Durchmesser  $\frac{1}{8}$  Zoll. 5% GE-SE 52 auf Diatoport S 80–100 mesh.

Trägergas Stickstoff 25 ml/Min. Temperatur des Einspritzblocks 270°, des Detektors 320°. Temperaturprogrammierung des Ofens 100–250° 6°/Min.

Empfindlichkeit  $10^2 \times 4$ , Honeywellschreiber, Papiergeschwindigkeit 0,6 cm/Min.

Erklärung der Zahlen auf Tabelle 1

phenylessigsäure, *p*-Hydroxyphenylessigsäure, *p*-Hydroxyphenylpropionsäure,  $\alpha$ -Resorcyssäure, Homovanillinsäure, 3,4-Dihydroxymilchsäure, Hippursäure, Vanillinmandelsäure, *p*-Hydroxyphenylbrenztraubensäure, Indolelessigsäure, 5-Hydroxyindolelessigsäure. *p*-Hydroxybenzoesäure hatte die gleiche Retentionszeit wie *m*-Hydroxyphenylmilchsäure und Vanillinsäure die gleiche Retentionszeit wie Protocatechusäure (Tab. 1). Die Retentionszeit der Bezugssubstanz Hippursäure betrug 22,9 Min. (Tab. 1). Hippursäure und Vanillinmandel-

Tab. 2

Relative Retentionszeiten von Trimethylsilylestern-Trimethylsilyläthern der Phenolsäuren, bezogen auf *p*-Hydroxyphenylessigsäure (1,00) = 17,5 Min.

F und M 810 5% GE-SE 52 auf Diatoport S 80–100 mesh. Säulenmaße 12 feet Länge,  $\frac{1}{8}$  Zoll Durchmesser. Säulentemp. 100–250° 6°/Min. Empfindlichkeit  $10^2 \times 8$

1 = <i>m</i> -Hydroxybenzoesäure	0,90
2 = <i>m</i> -Hydroxyphenylessigsäure	0,96
3 = <i>p</i> -Hydroxybenzoesäure	0,97
4 = <i>p</i> -Hydroxyphenylessigsäure	1,00
5 = Vanillinsäure	1,16
6 = Vanillinmandelsäure	1,29

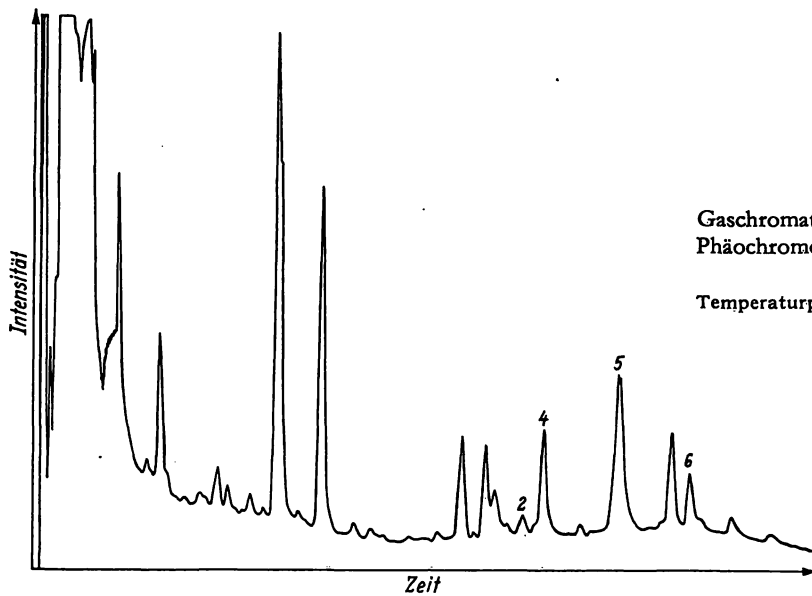


Abb. 2

Gaschromatogramm von 1  $\mu$ l Urinextrakt eines Patienten mit Phäochromocytom entsprechend 25  $\mu$ g Kreatinin nach Behandlung mit Bis-(trimethylsilyl)-acetamid

Temperaturprogrammierung 100—250° 6°/Min. 5% GE-SE 52 auf Diatoport S 80—100 mesh.

Empfindlichkeit  $10^2 \times 8$

Erklärung der Zahlen auf Tabelle 1

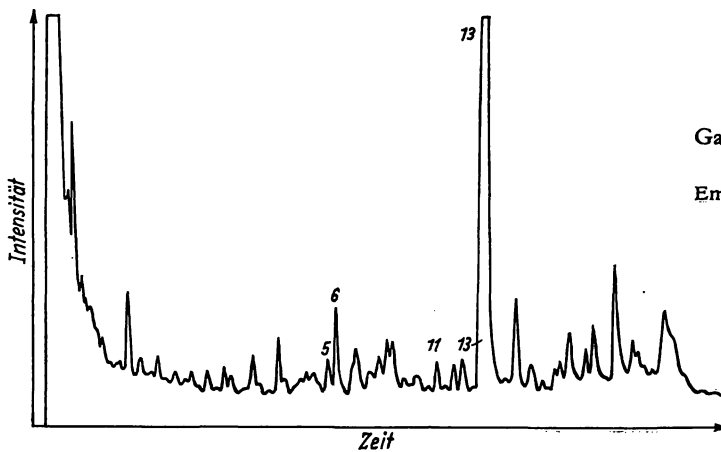


Abb. 3

Gaschromatogramm von 3  $\mu$ l Urinextrakt einer Normalkontrolle entsprechend 120  $\mu$ g Kreatinin

Empfindlichkeit  $10^2 \times 4$ . Temperaturprogrammierung 100—250° 6°/Min. Papiergeschwindigkeit 0,6 cm/Min.

Erklärung der Zahlen auf Tabelle 1

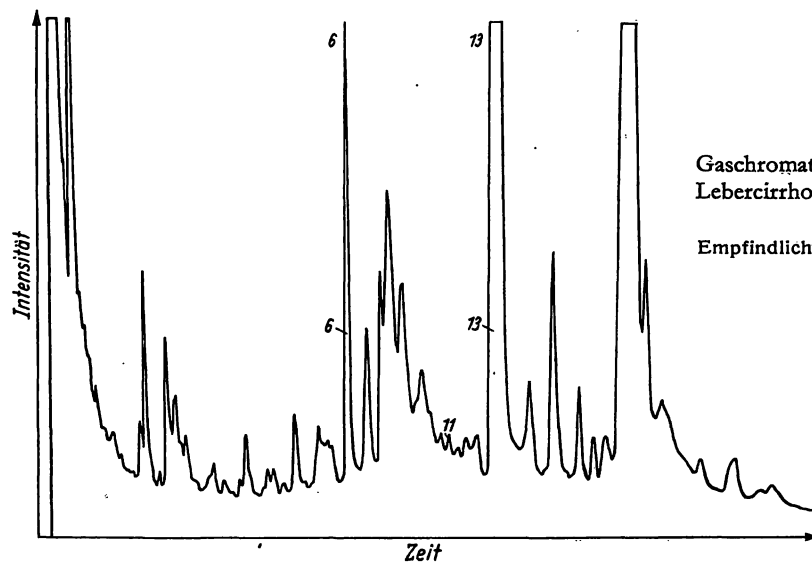


Abb. 4

Gaschromatogramm von 3  $\mu$ l Urinextrakt eines Patienten mit Lebercirrhose und Zeichen hepatischer Enzephalopathie entsprechend 120  $\mu$ g Kreatinin

Empfindlichkeit  $10^2 \times 4$ . Temperaturprogrammierung 100—250° 6°/Min. Papiergeschwindigkeit 0,6 cm/Min.

Erklärung der Zahlen auf Tabelle 1

Tab. 3  
Methylester-Methyläther von Phenolsäuren im Urin in  $\mu$ g/mg Kreatinin

	11 lebergesunde Erwachsene	21 Patienten mit Lebercirrhose
<i>p</i> -Hydroxyphenyllessigsäure	24,5 (6,3—46,0)	95,6 (20,0—249,0)
<i>m</i> -Hydroxyphenyllessigsäure	13,9 (2,9—27,8)	nicht nachweisbar

säure überlagerten sich zum Teil und zeigten ein starkes tailing (Abb. 1). Zur Abtrennung der Vanillinmandelsäure wurden daher die Trimethylsilylester-Trimethylsilyläther hergestellt (Abb. 2 und Tab. 2).

Abbildung 3 und 4 zeigen Urinextrakte einer Normalkontrolle und eines Patienten mit Lebercirrhose und hepatischer Enzephalopathie, bei dem eine ausgeprägte Tyrosylurie bestand. Die *p*-Hydroxyphenylelessigsäureausscheidung betrug bei 11 lebergesunden Erwachsenen 24,5 µg/mg Kreatinin (Bereich 6,3 bis 46,0 µg/mg Kreatinin). Demgegenüber lag die Ausscheidung von 21 Patienten mit Leberinsuffizienz bei 95,6 µg/mg Kreatinin mit einem Bereich von 20,0 bis 249 µg/mg Kreatinin (Tab. 3).

Die *m*-Hydroxyphenylelessigsäureausscheidung betrug bei den Kontrollen 13,9 µg/mg Kreatinin (Bereich 2,9 bis 27,8 µg/mg Kreatinin). Bei den 21 Patienten mit Leberinsuffizienz konnte sie nicht nachgewiesen werden.

### Diskussion

Die gaschromatographische Auftrennung von aromatischen Säuren wurde erstmals von WILLIAMS und SWEELEY (7) durchgeführt. Sie fanden bei der Untersuchung von Urinextrakten nach Herstellung der Methylester mit Diazomethan und Auftragen einer Urinmenge, die 400 µg Kreatinin entsprach, etwa 40 Peaks. DALGLIESH und HORNING (9), HORNING, KNOX und DALGLIESH (10), sowie HORNING, BOUCHER und MOSS (1) stellten die Methylester-Trimethylsilyläther mit Diazomethan und Trimethylchlorsilan und die Trimethylsilylester-Trimethylsilyläther mit BSA her und konnten ebenfalls 40 bis 50 Substanzpeaks bei Temperaturprogrammierung auftrennen.

Wir stellten die Methylester-Methyläther von Phenolsäuren her und zur Untersuchung der Vanillinmandelsäure die Trimethylsilylester-Trimethylsilyläther mit Bis-(trimethylsilyl)-acetamid. Wir arbeiteten ebenfalls mit Temperaturprogrammierung.

Quantitative Angaben über die Ausscheidung der *m*- und *p*-Hydroxyphenylelessigsäuren liegen nur vereinzelt vor. WILLIAMS und SWEELEY (7) fanden bei 4 Normalpersonen 8–42 µg/mg Kreatinin und HORNING und Mitarbeiter (10) bei erwachsenen Männern 31,3 mg/24 Stdn. *p*-Hydroxyphenylelessigsäure im Urin. Die *m*-Hydroxyphenylelessigsäureausscheidung soll nach WILLIAMS und SWEELEY (8) 0,5 bis 2,6 µg/mg Kreatinin betragen. Während unsere Normalwerte der *p*-Hydroxyphenylelessigsäure mit diesen Literaturangaben etwa übereinstimmen (24,5 µg/mg Kreatinin bei einem Bereich von 6,3 bis 46,0) liegen unsere Werte für die *m*-Hydroxyphenylelessigsäure mit 2,9 bis 27,8 µg/mg Kreatinin höher. Die Untersuchung der Phenolsäureausscheidung im Urin gibt bei folgenden Krankheiten diagnostische Hinweise: Phäochromocytom (12, 13), Carcinoid (14), Hypertonie (15, 16), Lebercirrhose und Koma hepaticum (4–6, 17), Tyrosinämie (18), Phenylketonurie (19), Neuroblastom (20, 21), Alkaptonurie (22) und Melanom (23).

Ein Teil der im Urin ausgeschiedenen Phenolsäuren ist aber wahrscheinlich diätetischen Ursprungs. HARTMANN (4) konnte allerdings unter eiweißreicher Kost keine Unterschiede gegenüber Normalkost im papierchromatographisch untersuchten Phenolsäurenmuster des Urins feststellen. VON STUDNITZ, ENGELMAN und SJOERDSMA (24) untersuchten die Phenolsäureausscheidung bei reiner Glucose-Citronensäurediät und fanden gegenüber der Kontrollperiode eine Verarmung des Phenolsäuren-musters, jedoch wurden folgende Phenolsäuren unverändert ausgeschieden: *p*-Hydroxyphenylelessigsäure, *m*-Hydroxyphenylelessigsäure, Homovanillinsäure, *p*-Hydroxybenzoesäure, Vanillinmandelsäure, *p*-Hydroxymandelsäure, *m*-Hydroxyhippursäure, 5-Hydroxyindolessigsäure, *o*-Hydroxyphenylelessigsäure sowie zwei nicht identifizierte Substanzen.

Uns interessiert die Ausscheidung der Phenolsäuren bei Lebererkrankungen. Für den Schweregrad des Leberparenchymschadens bei akuten und chronischen Lebererkrankungen kann die Tyrosylurie als Parameter dienen. Bei unseren früheren papierchromatographischen Untersuchungen der Phenolsäureausscheidung im Urin war uns aufgefallen, daß bei zunehmender Leberinsuffizienz als Folge der Tyrosinverwertungsstörung die Abbauprodukte aus der *p*-Hydroxyphenylreihe ansteigen (6), während die *m*-Hydroxyphenylelessigsäure dann nicht mehr nachweisbar ist. *p*-Hydroxyphenylelessigsäure entsteht im Nebenabbauweg aus *p*-Hydroxyphenylbrenztraubensäure (Abb. 5) und ist vermehrt, wenn die

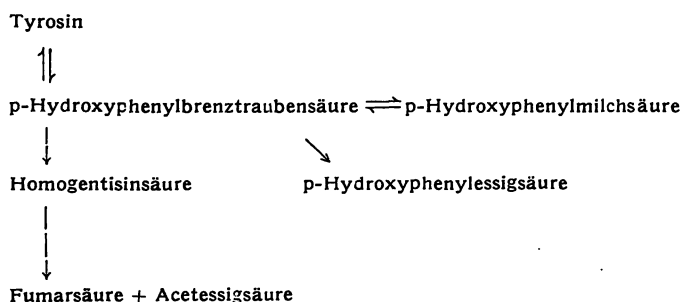


Abb. 5

Entstehung der *p*-Hydroxyphenylsäuren

Aktivität der *p*-Hydroxyphenylbrenztraubensäureoxydase in der Leber vermindert ist. Diese Aktivitätsverminderung ist bei der angeborenen Stoffwechselstörung Tyrosinosis gesichert (25).

Die vermehrte Ausscheidung ist also Ausdruck einer Leberpartialfunktionsstörung.

*m*-Hydroxyphenylelessigsäure ist ein Abbauprodukt von Dihydroxyphenylalanin (DOPA) (26). Die fehlende Ausscheidung dieser Substanz bei Leberinsuffizienz würde für eine Störung im Catecholaminstoffwechsel sprechen. Weitere quantitative Untersuchungen anderer Phenolsäuren im Urin bei Lebercirrhose sollen folgen, insbesondere wäre zu klären, ob Korrelationen zur hepatischen Enzephalopathie bestehen.

## Literatur

1. ARMSTRONG, M. D., K. N. F. SHAW und P. E. J. WHITE, J. biol. Chemistry, 218, 293 (1956). — 2. ROBINSON, R., Nature London, 194, 879 (1962). — 3. SMITH, I., Chromatographic techniques, William Heinemann Med. Books, London (1958). — 4. HARTMANN, F., Gastroenterologia (Basel) Suppl., 95, 182 (1961). — 5. HARTMANN, F., Klin. Wschr., 39, 273 (1961). — 6. HARTMANN, F. und W. RUGE, Dtsch. Arch. klin. Med., 208, 298 (1962). — 7. WILLIAMS, C. M. und C. C. SWEeley, J. Clin. Endocr. Springfield, 21, 1500 (1961). — 8. WILLIAMS, C. M. und C. C. SWEeley, Gas chromatography of urinary aromatic acids. In: Biomedical applications of gas chromatography, Hrsg. H. A. Szymanski, Plenum New York (1964). — 9. DALGLIESH, C. E., E. C. HORNING, M. G. HORNING, K. L. KNOX und K. YARGER, Biochem. J., 101, 792 (1966). — 10. HORNING, M. G., K. L. KNOX, C. E. DALGLIESH und E. C. HORNING, Analytic. Biochem. 17, 244 (1966). — 11. HORNING, M. G., E. A. BOUCHER und A. M. MOSS, J. Gaschrom., 5, 297 (1967). — 12. ARMSTRONG, M. D., A. McMILLAN und K. N. F. SHAW, Biochem. biophysica Acta, Amsterdam 25, 422 (1957). — 13. RUGE, W., Med. Klin., 61, 1671 (1966). — 14. KÄHLER, H. J., Das Karzinoid, Springer Berlin Heidelberg New York (1967). — 15. BORSCHER, W., F. HARTMANN, V. HEIMSOOTH und W. RUGE, Klin. Wschr., 42, 927 (1964). — 16. BRISSE, B. und F. BENDER, Klin. Wschr., 46, 108 (1968). — 17. RENNINGER, W., F. HARTMANN und W. RUGE, Dtsch. Arch. klin. Med., 209, 166 (1963). — 18. KOGUT, M. D., K. N. SHAW und G. N. DONNEL, Amer. J. Dis. Child., 113, 47 (1967). — 19. LYMAN, F. L., Phenylketonuria. Thomas Publ. Springfield Ill. (1963). — 20. GJESSING, L. R., Scand. J. Clin. Laborat. Invest., 15, 463 (1963). — 21. VON STUDNITZ, W., Klin. Wschr., 40, 163 (1962). — 22. GARRÖD, A. E., Lancet II, 73, 1908. — 23. COWARD, R. F. und P. SMITH, Nature London, 216, 520 (1967). — 24. VON STUDNITZ, W., K. ENGELMAN und A. SJOERDSMA, Clin. chim. Acta Amsterdam, 9, 224 (1964). — 25. TANIGUCHI, K. und L. R. GJESSING, Brit. Med. J. 1, 968 (1965). — 26. DEEDS, F., A. N. BOOTH und F. T. JONES, J. biol. Chemistry 227, 615 (1957).

Dr. W. Ruge  
3000 Hannover  
Podbielskistr. 380

## Quantitative Mikrobestimmung von Dextran

### I. Bestimmung in Körperflüssigkeiten<sup>1)2)</sup>

Von W. APPEL, VERENA WIRMER und DANUTA SPRENGARD

*Aus der Biochemischen Abteilung der Firma Knoll AG Chemische Fabriken, Ludwigshafen/Rhein*

(Eingegangen am 27. Mai 1968)

Aus verschiedenen Methoden zur Bestimmung von Dextran (Macrodex, Rheomacrodex) in Blut (Serum) und Urin werden einzelne Schritte zu einem neuen Verfahren kombiniert: Enteiweißung mit Pikrinsäure, Isolierung des Dextrans und kolorimetrische Bestimmung nach der Anthron/ $H_2SO_4$ -Methode. Dieses Verfahren ist ohne Abänderung auf alle geprüften menschlichen und tierischen Körperflüssigkeiten anwendbar.

Das Verfahren wird als Milliliter- und Mikrolitermethode beschrieben. Im Milliliterverfahren werden maximal bis zu 0,5 ml, im Mikroliterverfahren bis zu 20  $\mu$ l eingesetzt. Die untere, absolute Nachweisgrenze liegt beim Mikroliterverfahren bei 2  $\mu$ g Dextran. Die durchschnittliche Genauigkeit beträgt in wäbr. Lösungen  $\pm 2,2\%$  (ohne), zwischen 5,0 und 10,2% ( $n = 106$ ) mit Isolierungsverfahren, je nach Bearbeiter und Probenzahl. In biologischem Material werden 12,9–14,8% ermittelt. Im Milliliterverfahren werden ähnliche Werte für die Genauigkeit gefunden: in wäbr. Lösungen  $\pm 1,8\%$  (ohne),  $\pm 6,2\%$  mit Isolierungsverfahren, und 7,2–11,4% im biologischen Material. Die Wiederauffindquote liegt stets zwischen 95–105%.

#### *The quantitative micro determination of dextran I. in body fluids*

Individual stages from each of the various methods for the measurement of dextran (Macrodex, Rheomacrodex) in blood (serum) and urine have been combined to give a new procedure: deproteinisation with picric acid, isolation of the dextran and colorimetric determination by the anthrone/ $H_2SO_4$  method. This method can be used without modification on all the tested human and animal body fluids. The method is described on a millilitre and a microlitre scale. In the millilitre method a fluid volume maximally not lower than 0.5 ml. is added, and in the microlitre method this volume is 20  $\mu$ l. The lower limit of detection in the microlitre method is 2  $\mu$ g. dextran; the average accuracy with aqueous samples is  $\pm 2.2\%$  omitting the isolation procedure, and between 5.0 and 10.2% ( $n = 106$ ) with the isolation, depending on the operator and the number of samples. With biological material the accuracy is 12.9–14.8%. In the millilitre method, the error was similar: in aqueous solutions  $\pm 1.8\%$  without isolation,  $\pm 6.2\%$  with isolation, and 7.2–11.4% in biological material. The recovery was always 95–105%.

Mit der rasch wachsenden Bedeutung des Dextrans als Arzneimittel wurde ein kritischer Vergleich der bekannten Bestimmungsmethoden und die Prüfung der Brauchbarkeit für tierisches und menschliches Untersuchungs-

material erforderlich. So ist eine quantitative Bestimmung im Blut von Neugeborenen eine Voraussetzung zu Studien über die Permeabilität der Placentamembran. Die zunehmende Verwendung des niedermolekularen Dextrans, Dextran 40<sup>3)</sup>, in der Klinik hat weitere Fragen aufgeworfen, beispielsweise nach dem Übertritt der niedermolekularen Anteile in verschiedene Gewebs-

<sup>1)</sup> Auszugsweise vorgetragen auf dem VI. Internationalen Kongreß für klinische Chemie, München 1966 (Abstr. Nr. C 16, S. 201 des Referatenbandes).

<sup>2)</sup> II. Bestimmung in Geweben (in Vorbereitung).

<sup>3)</sup> Rheomacrodex, Knoll AG, Ludwigshafen/Rhein.